



**MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO**  
**UNIVERSIDADE FEDERAL DE SERGIPE**  
**PRÓ-REITORIA DE PÓS-GRADUAÇÃO E PESQUISA**  
**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ZOOTECNIA**



## **CINÉTICA DA FERMENTAÇÃO RUMINAL DE DIETAS CONTENDO LEGUMINOSAS TANINÍFERAS**

**MARIA JUCIARA SILVA TELES RODRIGUES**

**São Cristóvão-SE**

**2017**

MARIA JUCIARA SILVA TELES RODRIGUES

CINÉTICA DA FERMENTAÇÃO RUMINAL DE DIETAS  
CONTENDO LEGUMINOSAS TANINÍFERAS

ORIENTADOR (A): PROF<sup>a</sup>. DR<sup>a</sup>. JUCILEIA A. DA SILVA MORAIS

CO-ORIENTADOR: PROF. DR. EVANDRO NEVES MUNIZ

São Cristóvão-SE

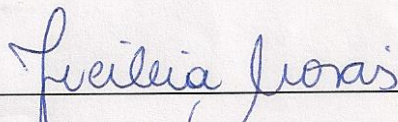
2017

Maria Juciara Silva Teles Rodrigues

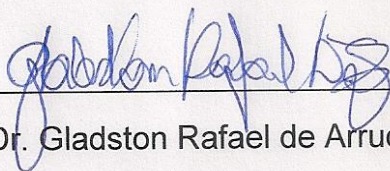
Cinética da Fermentação Ruminal de Dietas Contendo Leguminosas  
Taniníferas

Dissertação apresentada ao  
Programa de Pós-Graduação em  
Zootecnia da Universidade Federal  
de Sergipe, como parte das  
exigências para a obtenção do  
título de Mestre em Zootecnia

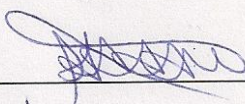
APROVADA em 22 de fevereiro de 2017.



Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Jucileia Aparecida da Silva Morais (UFS)



Prof. Dr. Gladston Rafael de Arruda Santos (UFS)



Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Monica Alixandrina da Silva Arruda Santos (IFS)

**FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA BIBLIOTECA CENTRAL  
UNIVERSIDADE FEDERAL DE SERGIPE**

Rodrigues, Maria Juciara Silva Teles.

R696f      Cinética da fermentação ruminal de dietas contendo leguminosas taniníferas / Maria Juciara Silva Teles Rodrigues; orientadora Jucileia Aparecida da Silva Moraes. – São Cristóvão, 2017.

41 f.: il.

Dissertação (mestrado em Zootecnia) – Universidade Federal de Sergipe, 2017.

1. Ruminante. 2. Dietas. 3. Feno. 4. Proteínas. I. Moraes, Jucileia Aparecida da Silva, orient. II. Título.

CDU 636.084.5

## **DEDICO**

“A Deus, por ter me concedido força e persistência frente aos desafios superados.”

## **AGRADECIMENTOS**

Agradeço a Deus, por me conceder a vida e as inúmeras oportunidades de me tornar uma pessoa e profissional melhor a cada experiência.

A minha mãe Nadeja, por ser meu porto seguro e por sempre me apoiar, ajudando em tudo que sempre precisei.

As minhas irmãs, Jucinara e Nayara por sempre torcerem por mim e terem orgulho de todas nossas vitórias alcançadas em família.

Meus sobrinhos Thayssa, Arthur e João Pedro, por me trazerem tanta alegria, e me ensinar com as pequenas coisas, e que a vida é mais do que a gente pode ter ou ser. A toda minha família, tios, primos, e “agregados”, por sempre me incentivarem, amo vocês.

A minha querida orientadora Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Jucileia Moraes, por todo ensinamento compartilhado, por sua paciência e orientação, sem o qual não seria possível a realização desse trabalho.

A meu co-orientador, Prof. Dr. Evandro Muniz, da Embrapa Tabuleiros Costeiros, por me conceder as amostras das leguminosas e estar sempre disponível para qualquer outra necessidade acadêmica.

Ao Prof. Dr. Gladston Rafael, por estar sempre disponível para esclarecimentos de dúvidas das análises.

As técnicas do Laboratório de Nutrição Animal (LANA) da UFS, Amanda e Luciana, por todo apoio e paciência.

A André doutorando da Fisiologia da UFS, por sua disponibilidade e atenção.

A Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Patrícia Beelen e sua orientada, Mariléia, da Universidade Federal de Alagoas-Campus A. C. Simões-Ceca, por toda atenção e receptividade.

Ao Prof. Dr. Alberto Wisniewski Jr., e o graduando Wenes Ramos, do departamento de Química da UFS, por todo apoio e atenção.

Ao Sr<sup>o</sup> Pina e Sr<sup>o</sup> Antônio, da Fazenda de Ovinos Pina, por me concederem material animal.

A Juliana e Socorro, por serem meus braços direito e esquerdo durante esse tempo no LABFER e LANA-UFS.

Aos doutorandos Vinícius Oliveira da UFBA e Flávio Mota Unesp-Jaboticabal.

Ao meu amigo Anailton por todo companheirismo e paciência, a amiga Jessyka, por todas as risadas compartilhadas mesmo a quilômetro de distância, aos amigos Darlan e Leandro e todos os outros da UFAL-Arapiraca, representados aqui por eles, por torcerem por meu sucesso.

Aos meus professores de graduação, Dr. Tobyas Maia, Dr<sup>a</sup>. Josilaine Matos e Dr. Dorgival Moraes, que mesmo longe sempre me incentivaram.

Aos amigos e companheiros de jornada, conquistados no mestrado, que levarei para sempre comigo, Priscila, Alana, Telisson, Adriano, David, Gleice, Washington, Mariana, Socorro, Camilo. A todos os amigos não citados aqui, mas que sabem que são fundamentais para o meu sucesso pessoal e profissional.

A CAPES e ao PROMOB - Programa de Estímulo a Mobilidade e ao Aumento da Cooperação Acadêmica da Pós-Graduação em Sergipe, pelo financiamento da bolsa de estudo e recurso para análises laboratoriais, sem as quais não seria possível a realização desse estudo.

## SUMÁRIO

RESUMO.....	9
ABSTRACT .....	10
REVISÃO BIBLIOGRÁFICA .....	3
Leguminosas taniníferas .....	3
Ação do tanino sobre a fermentação e a microbiota ruminal .....	7
MATERIAL E MÉTODOS .....	9
Local e confecção dos fenos.....	9
Composição químico-bromatologica e fracionamento de proteína .....	10
Estimativa de fenóis totais e tanino condensados .....	11
Análise da produção de gás <i>in vitro</i> .....	11
Digestibilidade e desaparecimento <i>in vitro</i> .....	13
Determinação do pH e N-amoniaco .....	13
Delineamento Experimental e análise estatística.....	14
RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	14
CONCLUSÃO.....	26
LITERATURA CITADA.....	26



## RESUMO

Avaliou-se cinco dietas compostas por feno de capim elefante associado ao alimento concentrado (milho e farelo de soja) ou a uma leguminosa, sendo elas a gliricídia, a leucena, o guandu e a jureminha. Sendo elas: Controle: 50% de feno de capim elefante e 25% de milho moído e 25% farelo de soja, Gliricídia: 50% de feno de capim elefante e 50% de feno de gliricídia, Leucena: 50% de feno de capim elefante e 50% de feno de leucena, Guandu: 50% feno de capim elefante e 50% de feno de guandu e a dieta Jureminha: 50% feno de capim elefante e 50% de feno de jureminha. Foi estimada a digestibilidade da matéria seca (DIVMS), da matéria orgânica (DIVMO) e da fibra solúvel em detergente neutro (DIVFDN), a degradação da matéria seca (DesMS) e da matéria orgânica (DesMO), a produção de gás *in vitro* (PGIV) e os parâmetros de fermentação ruminal, como o pH, N-NH<sub>3</sub> e fator de partição (FP) após incubação *in vitro* DE 48 horas. A dieta Controle apresentou maior DIVMS, DIVMO, DIVFDN e maior DesMS e maior DesMO, maior volume final de produção de gás (VF), maior taxa de produção de gás (S) e menor tempo de colonização (L) resultando em maior produção cumulativa total de gás durante às 48 horas de incubação ( $P < 0,05$ ). A dieta Guandu apresentou os menores, mas resultados satisfatórios para a DIVMS, DIVMO, DIVFDN, DesMS e DesMO, e menor produção cumulativa total de gás ( $P < 0,05$ ), a dieta Gliricídia apresentou maior DIVMS, DIVMO com maior VF, S e L ( $P < 0,05$ ). As dietas Gliricídia, Leucena, Guandu e Jureminha, se mostraram eficientes para serem utilizadas na alimentação de ruminantes. Dentre as dietas contendo leguminosas, a dieta Gliricídia demonstrou maior eficiência na substituição por alimento concentrado, já que apresentou resultados mais aproximados aos encontrados na dieta Controle.

**Palavras-chave:** digestibilidade, forrageiras, proteína

## ABSTRACT

A total of five diets, were evaluated. The diets composed was by elephant grass hay with inclusion of concentrate (corn and soybean meal) or four tropical leguminous: pigeonpea, gliricidea, jureminha and leucaena. The diets used were: Control kept at elephant grass hay concentrate (25% for corn and soybean meal) ratio of 50:50, Gliricídia: kept at a elephant grass hay gliricídia hay ratio of 50:50, Leucena: kept at a elephant grass hay leucena hay ratio of 50:50, Guandu: kept a elephant grass hay guandú hay ratio of 50:50 and Jureminha kept at a elephant grass hay: jureminha hay ratio of 50:50. Digestibility for: dry matter (DDM), organic matter (DOM) and neutral detergent soluble fibre (DNDSF) estimated was. Degradation of dry matter (DegDM) and organic matter (DesOM), in vitro gas production (IVGP), ruminal fermentation parameters: pH, NH<sub>3</sub>N (ammonia nitrogen) and partitioning factor (PF) after in vitro incubation of 48 hours. The control diet showed higher values for digestibility and degradability parameters, as well as higher final gas production volume (FGV), higher gas production rate (S) and shorter colonization time (L), resulting in higher cumulative production gas during 48 hours of incubation ( $P<0.05$ ). The Guandu diet showed the lowest, however satisfactory results for DDM, DOM, DNDSF, DegDM and DegOM, and lower cumulative total gas production ( $P<0.05$ ), the Gliricidia diet showed higher values for DDM, DOM, FGV,GR and L in comparison to Guandu diet ( $P<0.05$ ). The diets Gliricidia, Leucena, Guandu and Jureminha, provide alternative strategies for feeding ruminants. However, the Gliricidia diet showed a greater efficiency to substitute concentrate food, due to show similar results that observed for control diet.

**Key words:** digestibility, forage, protein

## INTRODUÇÃO

A sazonalidade nas diversas regiões do país proporciona a redução na produção e no aporte nutricional das forrageiras, refletindo em perdas no desempenho animal. Dessa forma, a utilização de suplementação na época de escassez de alimento, sobretudo da proteína do alimento, é fundamental. No entanto, é comum que os alimentos proteicos de origem vegetal, como o farelo de soja, apresentem preços elevados, contribuindo para o aumento dos custos de produção com a alimentação animal (SOUZA et al., 2010). Dentre as diversas formas de reduzir ou minimizar o déficit no valor nutricional, destaca-se a utilização de leguminosas (ZAHAWI, 2005; SILVA et al., 2010), tornando-as fonte estratégicas para a produção animal (PINA et al., 2006; MIZUBUTI et al., 2007; MIRANDA et al., 2011). Algumas leguminosas arbóreas ou arbustivas como a leucena (*Leucaena leucocephala*), gliricídia (*Gliricídia sepium*), guandu (*Cajanus cajan*), jureminha (*Desmanthus virgatus*), entre outras, apresentam-se com grande potencial para serem utilizadas na dieta de ruminantes como fonte proteica e volumosa, especialmente durante a estação seca (PEREIRA, 2015).

De um modo geral, essas são plantas que apresentam crescimento rápido, propagando-se por meio de sementes, mudas ou estaquias, sendo excelentes alternativas para regiões com déficit hídrico. Apesar do seu potencial forrageiro, o uso planejado dessas leguminosas tem uso ainda muito restrito, fazendo-se necessário realizar estudos aprofundados sobre essas características das leguminosas forrageiras que apresentem boa adaptabilidade ao clima e facilidade de manejo por parte dos produtores, substituindo parcial ou mesmo totalmente o componente proteico da dieta de ruminantes.

Essas espécies de leguminosas possuem em sua composição compostos provenientes do metabolismo secundário da planta e com função protetora ao estresse de escassez por água e nutrientes, ataque de fungos, bactérias, insetos, herbívoros e pássaros. Dentre os diversos tipos de compostos secundários destacam-se os taninos. Os taninos são definidos como um heterogêneo complexo de polifenóis de origem vegetal com alto peso molecular (MAKKAR, 2003), os quais diferem de outros polifenóis pela sua capacidade de precipitar proteínas, íons metálicos, aminoácidos e polissacarídeos (MAKKAR,

2003). Por essa particular característica, a presença de taninos na dieta de ruminantes pode diminuir a digestibilidade e a retenção de nitrogênio (MORAIS et al., 2011). Por outro lado, quando ingeridos em pequenas quantidades ou em função da atividade da molécula, os taninos podem causar efeitos positivos na digestão. Por isso, atribuir aos taninos apenas efeitos antinutricionais pode conduzir a interpretações errôneas, uma vez que esses compostos podem apresentar vantagens quando fornecidos aos ruminantes, principalmente relacionado a proteção da proteína ao ataque excessivo das bactérias ruminais, em que essa proteína se torna proteína não degradada no rúmen (PNDR).

A utilização de metodologias biológicas (como o estudo da produção de gás *in vitro*), em associação com a determinação da concentração de tanino podem dar uma melhor avaliação dos efeitos nutricionais dos taninos presentes nas espécies de leguminosas do semiárido brasileiro que são amplamente usadas na alimentação de ruminantes, mas pobremente caracterizados, limitando-se muitos trabalhos a composição químico-bromatológica (BEELEN et al., 2006). Na busca dessas respostas, o estudo da composição químico-bromatológica associada à cinética de degradação e digestibilidade destas leguminosas taniníferas com potencial de uso no semiárido é imprescindível, uma vez que esses fatores vão ter influência direta na resposta do animal à dieta que está sendo ofertada e em seu desempenho (SALMAN et al., 2010).

Cada vez mais, esforços devem ser concentrados em estudos que objetivem o desenvolvimento de sistemas de produção animal social, biológica, econômica e ecologicamente mais eficientes. Sendo assim, o uso de leguminosas taniníferas torna-se uma alternativa para alimentação animal, onde a dieta basal seja formada, principalmente, por gramíneas e a plantas taniníferas com alto valor protéico, componham parte da dieta. Entretanto, mais estudos avaliando os efeitos sobre a fermentação ruminal são necessários para incorporar estas forragens nos sistemas de alimentação de ruminantes.

Nesse contexto, a substituição de fontes proteicas pode ser uma estratégia viável para a minimização de custos com alimentação animal, desde que sejam alternativas eficientes, seguras e econômicas, permitindo desempenhos produtivos similares aos animais alimentados com dietas tradicionais (PINA et al., 2006).

Assim, objetivou-se avaliar a atividade fermentativa ruminal de diferentes leguminosas taniníferas em substituição ao alimento concentrado, a fim de gerar informações que possam ser utilizadas para uso planejado de forrageira leguminosas, na composição de dietas para ruminantes.

## **REVISÃO BIBLIOGRÁFICA**

### **Leguminosas taniníferas**

Plantas leguminosas adaptadas à uma determinada região possuem fatores físicos e químicos de proteção contra predadores e intemperes climáticas (LONGO et al., 2006), dentre esses fatores de proteção as saponinas, óleos essenciais e os compostos fenólicos, são alguns exemplos. Os taninos são exemplos de compostos fenólicos, sendo caracterizados como hidrolisável ou condensado, que podem apresentar alto peso molecular, entre 500-3000 daltons (MANGAN, 1988). Entretanto, se o composto fenólico da leguminosa for insolúveis (lignina) ou possuir peso molecular inferiores a 500 daltons, pode ocorrer uma menor atividade biológica dos taninos em relação a inibição na ação bacteriana ruminal. Devido à ausência de grupamentos fenólicos eficientes para formar pontes entre as moléculas de proteína (JANSMAN, 1993).

A utilização de forrageiras leguminosas taniníferas no período das águas, em regiões com grande representatividade dessas espécies, pode constituir cerca de 70% do volumoso ingerido por animais em pastejo. Além de que as plantas leguminosas se destacam, entre os outros tipos de forrageiras por possuírem uma quantidade de proteína que pode chegar à 25% da MS, tornando-as uma boa alternativa na alimentação animal (SILVA, 2009; McNAUGHTON & TERNUOTH, 1987).

Existem fatores intrínsecos ligados a planta que interferem na quantidade de tanino, a exemplo a cultivar utilizada, estágio de desenvolvimento, partes do tecido vegetal da planta utilizadas (HASLAM, 1996). Existem ainda os fatores externos, como condições de plantio e disponibilidade de nutrientes no solo para as espécies exploradas. Portanto, a composição e quantidade de tanino varia de acordo com a espécie utilizada (BUTLER, 1982; SPENCER et al., 1988) e

consequente, a cinética ruminal, quando utilizada na alimentação desses animais.

Os taninos, presentes em alguns exemplos de leguminosas, podem causar impactos variáveis dentro da nutrição animal, por apresentarem a capacidade de formar complexos entre os componentes da dieta, alterando a população microbiana e a atividade enzimática (McSWEENEY et al., 2001). Podendo formar complexos, principalmente, com proteínas, carboidratos, membrana celular das bactérias e íons metálicos (LEINMULLER & KARL-HEINZ, 1991). Alguns exemplos de leguminosas taniníferas com potencial forrageiro e que possuem as características citadas, são plantas com alta adaptabilidade às condições de escassez de água, como é o caso da leucena, gliricídia, guandu e da jureminha, dentre outras, que são, em suma maioria, utilizadas de forma indiscriminada.

Nativa do México, amplamente distribuída em regiões como a América central, África, Ásia e norte da Austrália, a leucena (*Leucaena leucocephala*) se adapta a diversos ambientes. Tem sido amplamente estudada, possui alto teor proteico, podendo chegar a 29,2%, em extrato de folhas, e 22,0% da PB em extrato da planta com folhas e galhos finos (GARCIA et al., 1996), e apresenta taninos condensados entre 1-1,5% (SAHA et al., 2008; KANG et al., 2012).

O tanino presente na leucena é caracterizado como de baixo peso molecular, que de acordo com Molina et al. (2016) esse tipo de tanino se torna menos eficiente na ligação e precipitação de proteínas. Assim, disponibiliza a proteína a excessiva degradação ruminal, caracterizando a leucena como sendo menos eficiente na proteção da proteína, quando comparada a outras espécies que possuem tanino com maior peso molecular.

Barreto et al. (2010) relatam que o teor de PB na utilização de dietas compostas por folhas mais vagens da leucena, pode chegar a 23%, quando composta por hastes finas e folhas pode chegar a 10%. A proteína da leucena possui alto valor nutricional, pois os aminoácidos estão em proporções adequadamente balanceadas (VIEIRA et al., 2007), tornando-se alternativa para a época de seca.

A gliricídia (*Gliricídia sepium*) é oriunda do México, América Central e Norte da América do Sul, apresenta rápido crescimento, raízes profundas e é tolerante a seca. Vem se destacando como boa fonte de proteína na alimentação

de ruminante dentre as leguminosas taniníferas, por apresentar altos níveis de PB (25%), é umas das espécies mais utilizadas na América Central (ZAHAWI, 2005). Pertence à família *Fabaceae*, sendo caracterizada como uma planta arbórea, a utilização desta leguminosa vem se tornando significativa, principalmente em áreas com grande sazonalidade na produção de alimentos. Por ser uma alternativa para produção de alimentos conservados, suplementando os animais na época de escassez de chuvas (CRAVEN et al., 2007).

Juma et al. (2006) comparam a gliricídia com outras leguminosas nativas da caatinga (clitoria e mucuna), e observaram que a gliricídia apresentou maior níveis de tanino em comparação com as outras leguminosas, em média 22,0% MS, enquanto a clitoria 17,0% e a mucuna 18,0%. O que, possivelmente, exerceria influência na digestibilidade da proteína, fazendo com que seja melhor aproveitada na porção do intestino delgado. Ocorrendo assim, um melhor aproveitamento de aminoácidos pelo animal, já que não foram utilizados para a formação de amônia ruminal em quantidades excessivas, ocasionando consequentes perdas energéticas.

A utilização da gliricídia pode ser otimizada quando ofertada na forma de feno ou silagem, uma vez que esses processos de conservação de volumosos podem aumentar a aceitação da gliricídia pelos animais, por causa da volatilização de compostos fenólicos, em comparação a ofertada *in natura* (COSTA et al., 2009).

O *Cajanus cajan*, conhecido popularmente como guandu, feijão guandu ou guandú, é uma leguminosa taninífera que apresenta crescimento arbustivo, com altura média de 1,5m. É considerada uma espécie adaptada as condições edafoclimáticas tropicais e subtropicais, a porcentagem de PB pode chegar à 28,0% (DEMINICIS, 2009). Neres et al. (2012) testaram a consorciação no plantio de guandu com outras forrageiras, o capim Piatã e o Tifton-85, e observaram aumento na fixação de nitrogênio pelas forrageiras, o que torna essa leguminosa uma alternativa em aumentar a sustentabilidade em sistemas de produção de ruminantes, especialmente em sistemas orgânicos.

Mizubuti et al. (2007) avaliaram dietas contendo diferentes proporções de guandu, em diferentes dietas, associados ao feno de capim coast cross (*Cynodon dactylon*): 60% de feno de coast cross + 40% de guandu e 80% de

feno de coast cross + 20% de guandu, ofertadas a ovinos machos adultos. E observaram um maior consumo médio diário (CSM) para a dieta com maior porcentagem de guandu, quando comparados aos animais que receberam a dieta com menor proporção. Identificaram também uma melhoria no coeficiente de digestibilidade da fibra, melhor aproveitamento do alimento fornecido e melhor desempenho animal.

A Tabela 1 demonstra a quantidade de tanino presente em alguns dos exemplares citados anteriormente, de acordo com resultados encontrados por Nozella, (2001).

Tabela 1. Teores de compostos fenólicos de plantas leguminosas

Amostra	Fenóis*	Taninos*	Taninos condensados*
Alfafa	12,51	7,92	0,3
Aroeira	20,41	19,42	4,35
Feijão bravo	2,60	2,26	1,4
Feijão guandu	2,77	2,03	6,2
Feno de leucena	3,04	2,43	1,0
Gliricídia	1,37	0,68	0,3
Jurema Preta	14,0	12,2	6,9
Leucena	9,85	7,9	6,5
Mela-bode	21,7	16,1	0,3
Moleque duro	4,6	3,9	0,2

Adaptado segundo Nozella, (2001).

\*valores expressos em porcentagem da MS (%)

*Desmanthus virgathus*, popularmente conhecida por jureminha. É uma leguminosa arbustiva perene, com ampla ocorrência na região Nordeste do Brasil, podendo atingir 4 metros de altura e cerca de 24% PB (GUTTERIDGE, 1994). É uma planta perene de ocorrência em toda a América do Sul, possui alta produção de sementes. Espécie de alta rusticidade, permitindo pastejo direto e formação de banco de proteína, podendo ser trabalhada em consórcio com gramíneas (FORLIN et al., 2000). Jones et al. (1998), obtiveram características químico-bromatológica da jureminha com 16% de PB, 87% de MO, 48% de FDN e 33% de FDA.

Dornelas (2003), cita jureminha como sendo uma alternativa para a alimentação de animais ruminantes. Exemplificada a jureminha como sendo uma



espécie capaz de aumentar a fixação de nitrogênio no solo, consequentemente, uma maior produção da matéria verde (MV) e que quando utilizada em consórcio, aumenta a produção da proteína microbiana e o desempenho animal.

Segundo Figueiredo (1989), a jureminha pode ser trabalhada em forma de feno, podendo apresentar até 30% de PB na MS, quando comparada a outras leguminosas, como a maniçoba (*Manihot glaziovii* Mu) e ao feijão bravo (*Capparis flexuosa* L.), sendo indicada sua utilização em forma de feno, o que otimiza sua produção por um maior período de tempo, inclusive na época de seca.

### **Ação do tanino sobre a fermentação e a microbiota ruminal**

Há uma relevância na utilização de alimentos, na nutrição de ruminantes, que apresentam em sua composição metabólitos secundários, que sejam capazes de modificar a fermentação ruminal, de forma que o animal aproveite melhor os nutrientes desta (LONGO et al., 2006). Dentre esses compostos pertencentes ao metabolismo secundário das plantas, os taninos se destacam por serem capazes de alterar a velocidade da degradação dos nutrientes, modificando, possivelmente, o perfil de bactérias degradadoras de proteína, carboidratos fibrosos e bactérias metanogênicas (LASCANO & CÁRDENAS, 2010). Por possuírem atividade moduladora da microbiota bacteriana, favorecendo, de forma geral, o maior aproveitamento dos nutrientes (BEELEN et al., 2008).

Alimentos que contém baixo teor de tanino condensado (até 6% na MS) podem ser utilizados como um potencial modulador da fermentação ruminal (PATRA e SAXENA, 2011). Essa modulação da fermentação ruminal é mediada através da formação de complexos, entre proteína e tanino, proporcionando à redução na degradação da proteína pelos microrganismos ruminais, aumentando o fluxo de proteína para absorção no intestino (SALLAM et al., 2010).

O complexo entre tanino e proteína ocorre através da lise celular, o qual também pode volatilizar, ou então se ligar aos diversos compostos, mas exclusivamente as proteínas (BUTLER, 1982). O mecanismo de ligação entre

tanino e proteína é exemplificado por Haslam (1996), que retrata o pH como sendo agente fundamental no complexo tanino-proteína, podendo ser essa uma característica reversível, envolvendo pontes de hidrogênio e ligações hidrofóbicas, alteradas de acordo com as modificações do meio externo.

O ambiente ruminal é passível de relações de interdependência entre as diferentes espécies bacterianas ali presentes. A degradação ou fermentação de diversos substratos por um grupo de bactérias, pode servir como substrato para outros grupos de bactérias, sendo o tanino fator de interferência na população microbiana ruminal (YOUNG & PATERSON, 1980). É graças a essa relação, entre diferentes espécies de bactérias ruminais, que se mantém o equilíbrio ruminal e que pode ser alterada pela presença de taninos condensados solúveis no meio.

O crescimento microbiano ruminal pode ser alterado e/ou diminuído com a presença de tanino, porém o mecanismo que explica essa ação ainda não está bem definido (MAKKAR et al., 1988). Mas, é sabido que o principal objetivo do tanino em dietas para ruminantes é aumentar a formação de ácido propiônico, por reduzir a proteólise e desaminação da proteína dietética no rúmen.

Estima-se que as bactérias passam por um tipo de complexação, formado por taninos/parede celular da bactéria ou tanino/enzima celular, que são secretadas exteriormente a célula bacteriana. Fazendo assim com que ocorra a inibição no transporte de nutrientes para o interior ou exterior da célula bacteriana, com consequente retardo do crescimento desses organismos (McSWEENEY et al., 2001).

Os taninos condensados podem formar complexos com carboidratos como: celulose, amido, pectinas, alcaloides, outros polifenóis e sais de metal pesado (GINER-CHAVES, 1996). No entanto, sua característica mais marcante, é a capacidade de formar complexos insolúveis com proteínas, o que explica a maioria de suas propriedades biológicas e antinutricionais (JEAN-BAIN, 1998). A redução da digestibilidade no rúmen têm sido parcialmente atribuída a inibição da atividade enzimática microbiana por taninos em espécies forrageiras leguminosas taniníferas, a partir da formação de complexos tanino-enzima.

A degradação da proteína depende de alguns fatores, como composição ou em que fração da fibra ela se encontra (NIDA ou NIDN), para que possa ser realmente degradada e digerida. Os compostos nitrogenados que chegam ao

intestino delgado são denominados como proteína não degradada no rúmen (PNDR) e a proteína endógena. De forma geral, os compostos nitrogenados que chegam ao rúmen são degradados pela ação de enzimas microbianas. Gerando aminoácidos, amônia, uréia ou nitratos, que serão posteriormente aproveitados pelas bactérias ruminais ou pelo próprio animal (KOZLOSKI, 2011).

## **MATERIAL E MÉTODOS**

### **Local e confecção dos fenos**

O experimento foi conduzido nos Laboratórios Fermentação Ruminal (LABFER) e de Nutrição Animal (LANA), da Universidade Federal de Sergipe. Os tratamentos testados foram: Controle: 50% de feno de capim elefante e 50% de concentrado (25% de milho e 25% de soja); Gliricídia: 50% de feno de capim elefante e 50% de feno de gliricídia; Leucena: 50% de feno de capim elefante e 50% de feno de leucena; Guandu: 50% de feno de capim elefante e 50% de feno de guandú e Jureminha: 50% de feno de capim elefante e 50% de feno de jureminha.

A ceifa do capim elefante foi realizada à altura de aproximadamente 15 cm do solo, quando a planta apresentava aproximadamente 45 dias de idade. Em seguida, o capim colhido foi picado em máquina forrageira, espalhado sobre lonas de polietileno a pleno sol para desidratação, com revolvimento a cada 30 minutos, durante dois dias, sendo armazenado em sacos durante o período da noite. O ensacamento do feno foi realizado no fim da tarde do segundo dia após o corte, quando o material apresentou “ponto de feno”, em que um feixe de capim amostrado é torcido manualmente não apresentando umidade e também não está ressecado ao ponto de quebrar.

A gliricídia, leucena, guandu e a jureminha utilizados para produzir o feno utilizados no experimento, foram provenientes de uma área estabelecida da Estação Experimental Jorge Sobral da Embrapa Tabuleiros Costeiros, situada no município de Nossa Senhora das Dores–SE. As leguminosas foram coletadas em média 60 dias após rebrota. Os cortes foram realizados na parte aérea das plantas, com tesoura de jardinagem, selecionando os ramos tenros, com galhos

de até 8 mm de espessura, compostos por folhas e extrato arbóreo. Todas as forrageiras leguminosas passaram pelo mesmo processo de fenação que o capim elefante, segundo metodologia adaptada de Rangel et al. (2011). Após a confecção, uma amostra representativa de cada feno foi colhida e armazenada para posteriores análises.

### **Composição químico-bromatológica e fracionamento de proteína**

As amostras dos ingredientes utilizados nas dietas foram secas em estufa com circulação forçada de ar (55°C), por 72 horas. Após a secagem, as amostras foram moídas em moinho tipo Willey, passando por peneiras com malha de 1 mm. Posteriormente, foram determinadas os teores de matéria seca (MS), proteína bruta (PB), extrato etéreo (EE) e matéria mineral (MM), de acordo com metodologias descritas em AOAC (2012). O teor de nitrogênio foi determinado pelo método de Kjeldahl, sendo o teor de proteína bruta calculado pelo fator  $6,25 \times N$ . A fibra em detergente neutro (FDN), fibra em detergente ácido (FDA) e lignina (LDA) foram analisadas segundo Van Soest et al. (1991), modificada por Senger et al. (2008). O teor de lignina em detergente ácido (LDA) foi obtido utilizando-se ácido sulfúrico 72% conforme Goering e Van Soest (1970).

Os carboidratos totais (CT) foram obtidos pela equação:  $100 - (\%PB + \%EE + \%MM)$  e os carboidratos não fibrosos (CNF), pela diferença entre CHOT e FDN, propostas por Sniffen et al. (1992).

O fracionamento da proteína foi realizado de acordo com o Sistema de Fracionamento de Carboidratos e Proteínas de Cornell (CNCPS 6.5, 2015), através da biodisponibilidade e taxa de degradação de cada dieta (Sniffen et al., 1992) que pode ser dividida em:

A= nitrogênio não proteico (fração solúvel);

B1= peptídeos e oligopeptídeos (fração de rápida degradação ruminal);

B2= proteína verdadeira (degradabilidade intermediária);

B3= proteína associada à fibra em detergente neutro (lenta degradabilidade ruminal) e

C= proteína insolúvel em detergente ácido indigestível.

A fração A ou compostos nitrogenados não proteicos (NNP) das amostras foi obtida pela diferença entre o teor de N total e o teor de N insolúvel em ácido

tricloroacético (TCA). Para determinação da fração B1 as amostras foram tratada com tampão borato-fosfato e, da diferença entre o N total e o N insolúvel em TBF determinou-se o N solúvel total. A fração B1 foi obtida por diferença, portanto, entre o N solúvel total e a fração A. A fração B3 foi determinada pela diferença entre o N insolúvel em detergente neutro (NIDN) e o N insolúvel em detergente ácido (NIDA). E a fração C foi obtida pela determinação do NIDA e, a fração B2, então determinada subtraindo-se de 100 as somas das frações A, B1, B3 e C.

### **Estimativa de fenóis totais e tanino condensados**

Para a determinação de fenóis totais foram pesadas amostras de todas as leguminosas (0,05g) e analisadas através do método Foli-Ciocalteu, conforme Makkar (2003), e para as concentrações de tanino solúvel (TS), tanino ligado ao resíduo sólido (TL) e tanino total (TT), foi utilizado o método butanol-HCl, descrito por Terrill et al. (1992). O resultado foi convertido em porcentagem relativa ao tanino de jurema preta, com base na equação de regressão da curva-padrão feita a partir do tanino condensado purificado de jurema preta (*Mimosa tenuiflora*) (BEELEN et al., 2006). A concentração total em taninos condensados foi obtida pela soma das frações solúvel e ligada ao resíduo, analisadas pela equação de regressão:  $Y = 0,022x + 1,18$  ( $R^2 = 0,998$ ).

### **Análise da produção de gás *in vitro***

As dietas foram analisadas quanto a produção de gás *in vitro* semiautomática, de acordo com metodologia descrita por Theodorou et al. (1994), que faz o uso de um transdutor de pressão manual para ler a pressão em psi dentro dos frascos e assim estimar o volume de gases produzidos.

O líquido ruminal utilizado para preparação do inóculo, foi coletado de ovinos machos, com idade média de 6 meses provindos de abatedouro. Os animais foram alimentados com dieta composta por gliricídia e capim elefante *in natura* picados, ou seja, estavam adaptados a dieta contendo tanino. O líquido ruminal foi coletado logo após o abate dos animais e armazenado em garrafas térmicas pré-aquecidas, a 39°C com água, e alojadas em caixa térmica durante

todo transporte. O preparo do inóculo foi realizado através da mistura do conteúdo de todas as garrafas, parte líquida e sólida, batido em liquidificador durante cinco minutos e purgados com CO<sub>2</sub>. Logo após, o conteúdo foi filtrado em gases, e mantidos em fluxo constante de CO<sub>2</sub> à 39°C, em banho-maria, até o momento da utilização.

As amostras das dietas foram incubadas em frascos de vidro do tipo penicilina, com capacidade total de 120ml, cada frasco continha 0,5g de amostra. A solução de incubação foi preparada como descrito por Theodorou et al. (1994), formada por uma solução tampão, macro e microminerais e utilizando cisteína-HCL como agente redutor (MOULD et al., 2005). Foi adicionado 20% de inóculo ruminal e 80% de solução de incubação em cada frasco, através de seringa graduada (80ml). Os frascos foram vedados com tampas de borracha (20mm), lacradas com anilhas de alumínio e mantidos em estufa à 39°C.

Foram realizadas duas séries de incubação, com cinco tratamentos e oito amostras incubadas por tratamento em cada uma das duas incubações, além de três frascos contendo o meio de incubação sem amostra (brancos) nas duas incubações, totalizando oitenta e seis frascos incubados.

As leituras de produção de gás foram obtidas através da utilização de um manômetro digital acoplado a uma válvula de três vias às 4, 6, 8, 10, 12, 14, 18, 20, 22, 24, 28, 36, 44 e 48 horas de incubação. Imediatamente após as leituras da pressão no interior dos frascos, obtidos em psi, o volume de gás do interior dos frascos foi liberado, com intuito de não inibir a fermentação no decorrer do estudo. Foi utilizada equação de regressão para converter os valores de pressão no interior dos frascos em volume de gás em ml, conforme Oliveira (2014). A equação determinada foi:  $Y = -0,382x^2 + 6,087x - 0,772$  ( $R^2 = 0,945$ ).

Onde:

Y= volume de gás (ml) e

X= pressão medida em psi (libras por polegada quadrada).

Os dados de volume de gás produzido foram submetidos a análise do modelo logístico unicompartmental:  $V(t) = V_f / [1 + \exp[2 - 4 \times c \times (t - L)]]$  de acordo com Shofield et al. (1992), em que V(t) é o volume acumulado no tempo t; V<sub>f</sub> (mL/100 mg MS), o total de gás produzido a partir da fração em questão; c (h<sup>-1</sup>), a taxa de degradação da fração potencialmente degradável dos

carboidratos contidos na matéria seca ou na parede celular insolúvel em solução detergente neutra; L, a latência discreta (h); e t, o tempo (h).

### **Digestibilidade e desaparecimento *in vitro***

Após o tempo de incubação (48h), o conteúdo dos frascos foi filtrado e lavado com água destilada em saquinhos de tecido-não-tecido para determinar o desaparecimento da matéria seca (DesMS) após permanecerem 16 horas em estufa a 105°C. O desaparecimento da matéria orgânica (DesMO) foi obtido pela diferença entre o peso das amostras incubadas e o peso obtido após a queima do resíduo em mufla a 600°C por 3h. A digestibilidade verdadeira da MS e MO foi obtida através da lavagem do resíduo de incubação com solução detergente neutro concentrada e acetona secos em estufa a 105°C durante oito horas e logo após foram pesados, conforme metodologia proposta por Goering e Van Soest (1970). A digestibilidade *in vitro* da FDN (DIVFDN) foi obtida através da FDN incubada menos a FDN da amostra dividida pela FDN incubada. Através da técnica *in vitro* de produção de gás, foi possível obter a razão entre a matéria orgânica (MO) que foi verdadeiramente degradada e a produção cumulativa de gases, chamado de fator de partição (FP) (BLUMMEL et al., 1997), sendo indicativo da eficiência da síntese de proteína microbiana.

### **Determinação do pH e N-amoniaco**

Foram realizadas duas séries de incubação para determinar o pH e a concentração de N-amoniaco ( $\text{N-NH}_3$ ). O procedimento de incubação foi realizado igual ao descrito anteriormente, no entanto foram incubados 6 frascos por tratamento. Abertos 2 frascos a cada intervalo de horas de incubação pré-determinadas, sendo esses intervalos após as 4, 8 e 12 horas após a incubação. Após abertos, o pH foi mensurado e realizada a coleta de uma alíquota de 2ml do conteúdo dos frascos e mantidas à -15°C, para posterior determinação da concentração de N-amoniaco. Sendo determinado através do sistema de micro-Kjeldahl, sem digestão ácida da amostra. Em cada amostra de 2ml foram adicionadas 13ml de água destilada e feita a titulada, usando como base o

hidróxido de potássio a 2N (5ml). O pH e N-amoniaco foram analisados em esquema fatorial 3x5, sendo três tempo de incubação, cinco tratamentos.

### **Delineamento Experimental e análise estatística**

O delineamento experimental utilizado foi Blocos Inteiramente Casualizados com cinco tratamentos (dietas), duas repetições no tempo (série de incubação) e oito repetições, totalizando dezesseis repetições por tratamento (frascos). Os dados obtidos nesse estudo foram submetidos à análise de variância, as médias comparadas através do teste de Tukey a 5% de significância, analisados pelo pacote estatístico SAS versão 9.2.

## **RESULTADOS E DISCUSSÃO**

A Tabela 2 apresenta a composição químico-bromatológica dos alimentos utilizados.

Tabela 2. Composição químico-bromatológica dos alimentos

%	Ingredientes						
	Feno de Capim Elefante	Farelo de Soja	Milho moído	Feno de Gliricídia	Feno de Leucena	Feno de Guandu	Feno de Jureminha
MS	81,5	89,0	87,4	82,1	81,5	80,3	80,2
MO	89,4	93,8	85,4	91,6	89,5	88,2	90,5
PB	13,2	45,8	9,4	21,5	21,1	18,6	19,4
EE	5,25	1,75	6,7	5,01	4,1	5,8	3,2
FDN	50,6	13,0	14,6	59,3	54,7	49,2	47,5
FDA	46,0	10,5	4,2	50,1	38,9	36	33,6
LDA	10,6	2,0	1,1	11,7	14,2	16,5	14,3
CEL	31,5	8,4	3,2	38,4	24,7	19,5	19,3
CT	72,3	44,2	85,5	74,1	66,5	68,5	65,3
CNF	7,3	28,8	68,7	14,3	11,4	26	27,5

MS= matéria seca; MO= matéria orgânica; PB= proteína bruta; EE= extrato etéreo; FDN= fibra solúvel em detergente neutro; FDA= fibra em detergente ácido; LDA= lignina; CEL= celulose; CT= carboidratos totais; CNF= carboidratos não fibrosos

Os fenos do capim elefante, gliricídia, guandu e jureminha apresentaram porcentagens da MS semelhantes entre si, enquanto o feno do capim elefante e da leucena apresentaram resultados semelhantes para as porcentagens da MO.



Os maiores percentuais de PB foram encontrados nos fenos da gliricídia e da leucena, e o farelo de soja apresentou percentual de 45,8% de PB. Os fenos das leguminosas jureminha e guandu apresentaram menor porcentagem da FDN com 47,5% e 49,2%, respectivamente, e o feno da gliricídia e da leucena com os maiores percentuais, 59,3% e 54,4%. Os fenos de capim elefante, de gliricídia e de leucena apresentaram percentuais aproximados de FDN. A FDN é um indicativo de consumo, por estar relacionado com a capacidade de enchimento do rúmen, com isso, interfere na proporção do valor energético do alimento, podendo tornar o consumo limitado, quando o teor de FDN ultrapassa 60% na MS (VAN SOEST, 1994), indicando que as leguminosas, quando manejadas de forma adequada podem ser utilizadas, sem provavelmente reduzir o consumo.

Para o percentual de FDA a indicação é a de que não ultrapasse 40% da MS (NUSSIO et al., 1998), assim, o feno das leguminosas utilizadas apresentaram diferentes características, o que pode refletir diretamente na utilização e fermentação da dieta. Os fenos da gliricídia e do capim elefante apresentaram os maiores percentuais de FDA, com 50,1% e 46% da MS (Tabela 2), respectivamente, apresentando assim, possivelmente, menor aproveitamento do alimento pelo animal. No entanto, a gliricídia apresentou maior teor de celulose, 36,4% da MS, representando aproximadamente 76,6% da FDA, enquanto o feno da leucena, do guandu e da jureminha apresentaram 24,7%, 19,5%, 19,3% respectivamente, representando aproximadamente 63,5%, 54,1%, 54,9% e 57,4% de celulose na FDA, respectivamente. Esses valores indicam que as leguminosas apresentaram diferentes perfis de componentes da parede celular e que podem refletir diretamente na utilização e fermentação ruminal.

O feno de guandu apresentou o maior percentual de LDA (Tabela 2) dentre as espécies estudadas, com 16,5% da MS e o feno de capim elefante apresentou o menor teor de LDA dentre as forrageiras. Aproximadamente 19,7%, 25,9%, 33,5% e 30,1% da parede celular das leguminosas gliricídia, leucena, guandu e jureminha, respectivamente, era composta por lignina, demonstrando novamente um perfil bastante distinto entre as espécies leguminosas. A digestibilidade dos nutrientes é influenciada negativamente pelo percentual da LDA da forrageira (BIANCHINI et al., 2007), a qual aumenta a fração indigestível do alimento e interfere no aproveitamento de carboidratos e

proteínas pela microbiota ruminal. Embora espécies leguminosas apresentem maiores concentrações de lignina que as gramíneas, aparentemente a lignina de gramíneas inibe mais acentuadamente a digestão (MOWAT et al., 1969).

O feno de gliricídia e de capim elefante tiveram os maiores valores de CT dentre todas as forrageiras analisadas e os percentuais do milho e do farelo de soja apresentaram valores aproximados aos encontrados na Tabela Brasileira de Composição de Alimentos (2011). Os CNF são fontes importantes de energia para a atividade inicial de degradação do alimento pelos microrganismos ruminais e fundamentais para o aproveitamento da proteína. Os fenos que apresentaram maior porcentagem de CNF foi o do guandu e o da jureminha (26,0 e 27,5%, respectivamente), e o capim elefante apresentou o menor teor (7,3%).

Vale ressaltar a boa composição bromatológica do feno de capim elefante utilizado no presente estudo, com alto teor de PB (13,2%) e baixos teores de parede celular (50,6% de FDN e 10,6% de LDA). Isso se deveu a pouca idade em que o capim foi cortado para a confecção do feno (45 dias de rebrota).

Os teores de PB presente nos fenos das leguminosas utilizadas foram de 21,5%, 21,1%, 18,6%, 19,4%, para gliricídia, leucena, guandu e jureminha, respectivamente. O teor de PB influencia diretamente no valor nutritivo do alimento, que quando fracionada justifica o maior ou menor aproveitamento desse nutriente.

Tabela 3. Fracionamento da proteína (% na PB) do feno de diferentes leguminosas

	Leguminosa			
	Feno de Gliricídia	Feno de Leucena	Feno de Guandu	Feno de Jureminha
A	20,4	30,0	16,9	20,1
B1	32,5	31,0	9,4	8,0
B2	26,8	19,0	25,5	27,6
B3	3,4	7,0	19,3	17,8
C	16,9	13,0	28,9	26,5

A= nitrogênio não proteico (fração solúvel);

B1= peptídeos e oligopeptídeos (fração de rápida degradação ruminal);

B2= proteína verdadeira (degradabilidade intermediária);

B3= proteína associada à fibra em detergente neutro (lenta degradabilidade ruminal)

C= proteína insolúvel em detergente ácido indigestível

O feno de guandu apresentou menor porcentagem da fração A (fração solúvel) 16,9%, e a leucena o maior percentual, 30,0%, caracterizada como fonte

de nitrogênio (N) prontamente disponível para a utilização por microrganismos no rúmen.

O feno da gliricídia e da leucena apresentaram maior porcentagem da fração B1, proteína de rápida fermentação, com 33,0% e 31,3%, respectivamente. De acordo com Sniffen et al. (1992), as frações A e B1 são totalmente degradadas no rúmen, sendo fonte indispensável à utilização na síntese de proteína microbiana, que é uma fonte de proteína com alto valor biológico, aproveitada pelos ruminantes. No entanto, tais frações presentes em maior quantidade nessas duas leguminosas podem ser melhor aproveitadas quando associadas a uma fonte de carboidratos mais prontamente disponível que ao carboidrato presente nos volumosos.

Em relação fração B2 (fermentação intermediária) o feno da jureminha e o da gliricídia e guandu apresentaram maior porcentagem, 27,6, 26,8 e 25,5%, respectivamente. A eficiência dessa porção de proteína, que não faz parte da parede celular, demanda um tempo de retenção do alimento um pouco maior que a fração B1 no rúmen para que possa ser degradada, sendo classificada como proteína de degradação intermediária, em que a taxa de degradação é dependente da taxa de passagem do alimento no rúmen.

O feno de jureminha apresentou maior porcentagem de fração B3, com 17,8%. A fração B3 pode ser a responsável pela lenta degradação ruminal dos compostos nitrogenados, podendo ser aproveitada na porção intestinal, aumentando a porcentagem da proteína não degradada no rúmen (PNDR). Com o aumento da proporção da PNDR, ocorre a redução da proteína degradada no rúmen, podendo acarretar em diminuição nas concentrações de  $N-NH_3$ , o que interfere no crescimento microbiano e consequente redução da fermentação da fibra. Por tanto, em dietas contendo altas porcentagens de proteína na forma da fração B3 deve-se levar em consideração a adição de uma outra fonte de nitrogênio que apresente maior degradabilidade ruminal, pois a proteína microbiana é a principal fonte de proteína metabolizável para os ruminantes (SILVA et al., 2002).

Os fenos do guandu e da jureminha apresentaram maior porcentagem da fração C em sua composição, com 28,9 e 26,5 %. A fração C, caracterizada como fração da proteína indigestível promovendo menor aproveitamento da

proteína, tanto em nível ruminal como intestinal, o que se torna um fator indesejável.

Tabela 4. Concentração de tanino condensado solúvel (TCS), tanino condensado ligado (TCL) e tanino condensado total (TT) e compostos fenólicos (CF), relativos ao tanino da jurema preta (*Mimosa tenuiflora*) e concentração de compostos fenólicos presentes nos fenos das leguminosas, utilizando ácido gálico

%	Leguminosa			
	Feno de Gliricídia	Feno de Leucena	Feno de Guandu	Feno de Jureminha
TCS	11,5	15,5	12,1	1,5
TCL	3,5	2,9	2,3	4,8
TT	15	18,4	14,4	6,3
CF	34	32,5	30	15,5

Observou-se que os taninos condensados solúveis (TCS) estiveram mais presentes nos fenos de leucena, guandu e gliricídia, 15,5%, 12,1%, 11,5%, respectivamente. Os fenos da jureminha e gliricídia apresentaram maior percentual de tanino condensado ligado (TCL), 4,8% e 3,5%, respectivamente, enquanto o feno da leucena e gliricídia apresentaram maior percentual de taninos condensados totais (TT) com 18% e 15%, respectivamente, o que pode interferir na excessiva degradação ruminal da proteína e melhor aproveitamento intestinal de aminoácidos, que foram resultantes da degradação da proteína no abomaso.

Taninos condensados em concentrações a baixo de 6% da MS, tem função de proteção da proteína contra a excessiva degradação ruminal e melhor absorção de aminoácidos na porção intestinal (BEELEN, 2002). Acima dessa percentagem pode causar efeitos negativos, como redução do consumo e da digestibilidade do alimento (GETACGEW et al., 2000). Segundo Beelen et al. (2007) os valores de TT encontrados que forem referenciados aos taninos da jurema preta, o qual foi utilizado para esse estudo, deve seguir a mesma ordem de não estarem acima de 6% da MS, pois podem, provavelmente, ter ação antinutricional.

O maior percentual de TC está na forma TCS no feno da gliricídia, leucena e do guandu. O maior percentual de CF foi encontrado no feno da gliricídia com 21%, e o menor foi encontrado na jureminha, 4,5%.

A DIVMS, DesMS, DIVMO, DesMO e DIVFDN e PGMO (Tabela 5) foram superiores ( $P<0,05$ ) na dieta Controle seguindo pelas dietas Gliricídia, Leucena e Jureminha e menor na dieta Guandu. A superioridade observada na dieta Controle está relacionada com a composição da dieta (Tabela 2), que apresentou maior quantidade de componentes fermentáveis, como as quantidades de PB, CT e CNF.

Tabela 5. Digestibilidade verdadeira (%) *in vitro* da matéria seca (DIVMS), da matéria orgânica (DIVMO) e da fibra em detergente neutro (DIVFDN), desaparecimento (%) da matéria seca e da matéria orgânica (DesMS e DesMO), produção de gás cumulativa (PGMO-ml/g de MO incubada) e fator de partição (FP), de dietas contendo feno de capim elefante associado ao alimento concentrado (Controle), ou feno de uma leguminosa, gliricídia (Gliricídia), leucena (Leucena), guandu (Guandu) ou jureminha (Jureminha)

	Dietas					CV*
	Controle	Gliricídia	Leucena	Guandu	Jureminha	
DIVMS	78,3a	73,1b	63,7c	52,4d	65,0c	4,43
DIVMO	82,0a	73,9b	71,8bc	52,4d	68,1c	6,96
DesMS	75,3a	69,2b	57,5c	47,0d	60,9c	6,54
DesMO	76,2a	69,1b	58,5c	45,1d	60,6c	6,30
DIVFDN	68,1a	61,2b	48,4c	20,6d	46,4c	7,32
PGMO	258,2a	208,6b	168,5c	135,6d	141,7d	7,91
FP	3,37b	3,38b	4,26a	4,19a	4,6a	14,8

Letras diferentes na mesma linha diferem estatisticamente a  $P<0,05$  pelo teste de Tukey

\*Coeficiente de variação

Dentre as dietas compostas por leguminosas, a dieta Gliricídia apresentou maior ( $P<0,05$ ) DIVMS, DesMS, DesMO, DIVFDN e PGMO do que as demais dietas, possivelmente pela menor concentração de lignina na dieta (Tabela 2), evidenciada pela DIVFDN superior (61,2%) em relação as demais dietas contendo leguminosas. Por conseguinte, as dietas Leucena e Jureminha não diferiram ( $P>0,05$ ) entre si nas variáveis DIVMS, DesMS, DIVMO, DesMO e DIVFDN e a dieta contendo Guandu apresentou os menores ( $P<0,05$ ) valores de digestibilidade e desaparecimento da MS e MO.

Esses resultados podem estar relacionados a concentração de LDA nas dietas, onde a dieta Guandu possui maior concentração de lignina do que as dietas Gliricídia, Leucena e Jureminha (Tabela 2), chamando-se atenção para a baixa digestibilidade da FDN na dieta Guandu que se refletiu em baixos valores de digestibilidade e desaparecimento da MS e MO. Esses resultados evidenciam

que não somente a presença de taninos na dieta pode afetar a degradação ruminal, mas também a composição da parede celular, sendo provavelmente esse o principal fator que influenciou os resultados de digestibilidade e desaparecimento.

Os menores porcentagens de da DIVMS, DesMS, DIVMO, DesMO e PVMO foram os apresentados pela dieta Guandu ( $P<0,05$ ). Isso pode ter ocorrido, possivelmente, por ser, entre todas as leguminosas, a que possui o menor teor da fração A e B1 da proteína e maior teor da fração C, o que influenciou na digestibilidade do alimento e consequente menor produção de gás cumulativa total (Tabela 5), devido a uma falta de sincronia entre a liberação de N e energia para as bactérias celulolíticas.

Soltan et al. (2012) observaram que uma dieta exclusivamente com feno Tifton apresentou menor FP do que dietas contendo leguminosas (leucena, prosopis, atriplex e acácia) e sugeriram que forrageiras leguminosas aumentam a eficiência de síntese microbiana, por aumentar a incorporação de MO degradada ruminalmente as células microbianas.

Santos (2013) avaliou a DIVMS de diferentes forrageiras leguminosas, entre elas a gliricídia e a leucena, obtendo percentuais de 77% e 74% de DIVMS, respectivamente. Assemelhando-se aos resultados encontrados para as dietas Controle e Gliricídia, que mesmo composta por diferentes gramíneas e leguminosas apresentou resultados semelhantes aos resultados apresentados por Santos que estudou a DIVMS somente de leguminosas.

A taxa de desaparecimento das amostras são consideradas de alto, médio e baixo desaparecimento, quando apresentam valores de 99,0, 64,5 e 53,7%, respectivamente, de acordo com Orskov e McDonald (1979). Assim, as dietas Controle e Gliricídia apresentaram alta e média taxa de DesMS, respectivamente, enquanto as dietas Leucena, Guandu e Jureminha apresentaram baixo DesMS e baixo desaparecimento da DesMO (Tabela 5), possivelmente, por essas leguminosas apresentarem maiores percentuais de LDA (Tabela 2), que quando associadas ao LDA do capim elefante obtiveram as maiores percentuais dentre todas as dietas.

Na variável PGMO observou-se maior ( $P<0,05$ ) produção de gás cumulativa (ml/g MO incubada) para a dieta Controle, seguida pelas dietas Gliricídia, Leucena. As dietas Guandu e Jureminha não diferiram entre si

( $P>0,05$ ) (Tabela 5). De acordo com García-González et al. (2008), existe uma estreita relação entre produção de gás e da MO fermentada ou digerida no rúmen. Essa relação é observada nos resultados da Tabela 5, onde as dietas Controle e Gliricídia apresentaram maiores valores de digestibilidade e desaparecimento da MO, assim como maior produção de gás, do que as demais dietas.

Quanto ao fator de partição (FP) (Tabela 5), as dietas Leucena, Guandu e Jureminha apresentaram os maiores valores entre as dietas e não diferiram entre si ( $P>0,05$ ), mas diferiram das Controle e Gliricídia ( $P<0,05$ ), que obtiveram os menores valores (Tabela 5) entre as dietas ( $P<0,05$ ). O FP, sugerido por Blummel et al. (1997), está relacionado a eficiência de síntese microbiana. De acordo com Makkar (2004), uma dieta com um maior FP, tem mais matéria orgânica degradada e incorporada à massa microbiana por ml de gás produzido, resultando em maior eficiência na fermentação e provavelmente maior consumo de alimentos. Para este mesmo autor, a faixa ótima de FP para leguminosas seria 3,1 a 16,1, acima do considerado ótimo para outros tipos de alimentos (2,75 a 4,41) (BLUMMEL et al., 1997). Isso pode ser devido a presença de taninos e características dos carboidratos das leguminosas taniníferas que levam a perda de matéria seca do resíduo sem produzir gás. Os resultados encontrados no presente estudo estão dentro dessas faixas sugerida por Makkar (2004), indicando que as dietas possuem boa eficiência de síntese microbiana.

Tabela 6. Volume final de gás produzido (VF), taxa de produção de gás (S) e tempo de colonização da amostra (L) de dietas contendo feno de capim elefante (*Pennisetum purpureum*) associado a milho e ao farelo de soja (Controle) ou a uma leguminosa, sendo elas gliricídia (Gliricídia), leucena (Leucena), guandu (Guandu) ou jureminha (Jureminha)

	Controle	Gliricídia	Leucena	Guandu	Jureminha	CV*
Vf	223,1a	204,6b	209,5b	171,0c	204,8b	5,66
S	0,060a	0,055b	0,031cd	0,032c	0,026d	11,64
L	6,9c	7,6bc	8,2b	8,9a	8,2ab	9,48

Letras diferentes na mesma linha diferem estatisticamente a  $P (<0,05)$  Tukey

\*Coeficiente de variação

O volume final de gás produzido (VF) foi maior para a dieta Controle, seguida pelas dietas Gliricídia, Leucena e Jureminha, que não diferiram entre si ( $P<0,05$ ), a dieta Guandu apresentou a menor VF ( $P<0,05$ ).

Os maiores VF das dietas Controle e Gliricídia que segundo Zhong et al. (2016) pode haver relação direta com as características de composição químico-bromatológica dos alimentos utilizados e estes com maiores teores de substratos prontamente fermentáveis, aumentam o aproveitamento do alimento e consequentemente a produção de gás. Ou quando a presença de TT associado a composição bromatológica com maiores teores de FDA, LDA e da fração C da proteína, o VF produzido por dietas com tais características pode ser menor, a exemplo do que foi observado na dieta Guandu.

A taxa de produção de gás (S) das dietas foi maior para as dietas Controle e Gliricídia, seguidas das dietas Leucena e Jureminha, a menor S foi apresentada pela dieta Guandu ( $P<0,05$ ). As características de taxa de produção de gás estão associadas com a eficiência na fermentação ruminal decorrida durante o tempo de incubação. Quanto maior for a S de uma dieta, maior é a atividade dos microrganismos ruminais e produção da proteína microbiana, consequentemente melhor é o aproveitamento de nutrientes (proteína) a nível ruminal (MAKKAR, 2003). E como existe grande importância da proteína microbiana para a atividade metabólica dos ruminantes, a degradação da proteína contribui para que a S seja maior, e que assim também seja para a produção de proteína microbiana (HERNANDEZ et al., 2014).

As dietas Guandu, Jureminha e Leucena obtiveram o maior tempo de colonização (L), seguida da dieta Leucena, que não diferiu estatisticamente da Jureminha, e as dietas Gliricídia e Controle que tiveram os menores valores de L, entre todas as dietas ( $P<0,05$ ). O processo de colonização bacteriana no substrato é facilitado quando há a disponibilidade de substrato de rápida fermentação na composição da dieta (GARCEZ et al., 2014). Além da disponibilidade de componentes prontamente fermentáveis presentes no alimento, outras características como as físicas e químicas da parede celular do alimento também são fatores de interferência ou facilitação na colonização microbiana (FLACHOWSKY & LEBZIEN, 2012). A retenção média do alimento no rúmen é preconizada em 48 h, seria desejável que a maior parte dos nutrientes digestíveis fossem fermentados dentro deste intervalo, para que houvesse uma maior eficiência alimentar (ZHONG et al., 2016)

Chama-se a atenção para os resultados encontrados para a dieta Gliricídia, que apresentou maior VF produzido, S próximo a dieta Controle, e



menor L, dentre as dietas contendo leguminosa. O que se mais se semelha aos parâmetros encontrados na dieta Controle, demonstrando sua eficiência no maior aproveitamento do alimento. O maior VF produzido, maior S e o menor L da dieta Controle estão, possivelmente, correlacionados com o menor percentual de FDN, a ausência de compostos fenólicos e de taninos condensados nessa dieta.

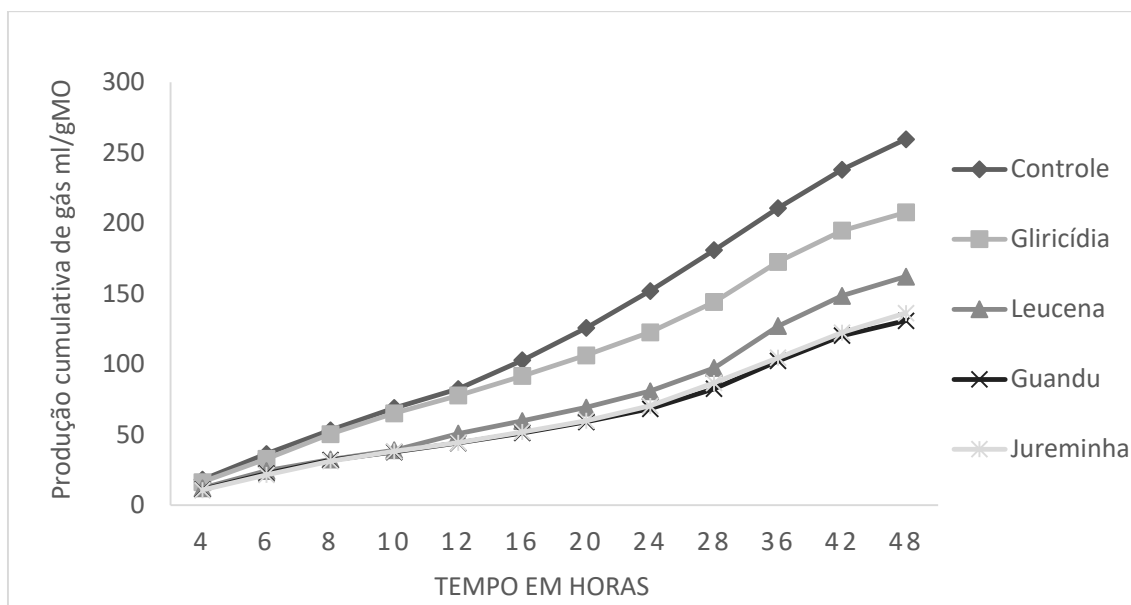


Figura 1. Produção cumulativa de gás em ml/gMO durante 48 horas de incubação, das dietas Controle, Gliricídia, Leucena, Guandu e Jureminha

Até as 6 horas de incubação as cinco dietas apresentaram produção cumulativa de gás aproximados, que nos demais intervalos de tempo (Figura 1), provavelmente porque o consumo de CNF foi simétrico entre elas durante as primeiras 6 horas de incubação. Logo após esse intervalo, as dietas Controle e Gliricídia mantiveram o crescimento na produção cumulativa de gás semelhante entre elas e consequentemente na fermentação ruminal até as 16 horas.

As dietas Leucena, Guandu e Jureminha não mantiveram o crescimento na cinética de fermentação tão eficiente quanto as dietas Controle e Gliricídia, no decorrer das 48 horas de incubação. Indicando a necessidade de um maior tempo de retenção ruminal para que aja um melhor aproveitamento do alimento. A fermentação das dietas Controle e Gliricídia produziram as maiores quantidades cumulativa de gás, demonstrando sua eficiência no aproveitamento do alimento e menor tempo de retenção ruminal da dieta. Dentre as dietas

contendo leguminosa a dieta Gliricídia se destacou por seu comportamento na cinética de fermentação, pois foi a que mais se assemelhou a dieta Controle.

A energia utilizada pelos microrganismos nas primeiras horas de incubação é proveniente, quase que totalmente, da fermentação dos carboidratos não-fibrosos, o que condiz com a maior velocidade de produção de gases nos tempos iniciais (SALLAM et al., 2010). Quanto maior for essa velocidade de fermentação ruminal maior será o aproveitamento e o consumo de alimento (FLACHOWSKY & LEBZIEN 2012). Por isso as dietas Leucena, Guandu e Jureminha podem ter seu consumo alterado negativamente por causa da baixa fermentação, assim limitando o consumo de dietas que contenham essas leguminosas.

Tabela 7. Valores de pH e concentração de N-amoniacal no inoculo ruminal in vitro de cinco dietas, avaliados em três tempos

	DIETAS						
Tempo (h)	Controle	Gliricídia	Leucena	Guandu	Jureminha	Média	CV*
pH							
4	6,80	6,80	6,80	6,81	6,80	6,80 A	1,11
8	6,77	6,80	6,80	6,82	6,80	6,80 A	
12	6,81	6,80	6,82	6,83	6,82	6,82 A	
Médias	6,79a	6,80a	6,81a	6,82a	6,81a		
N-amoniacal (mg/dL)							
4	7,22	5,50	5,65	7,33	6,24	6,39B	0,45
8	7,56	5,87	5,10	7,35	6,97	6,57A	
12	6,30	5,88	5,64	6,19	6,12	6,03C	
Médias	7.03a	5.75d	5.46e	6.96b	6.44c		

Médias seguidas de letras iguais, maiúsculas na coluna e minúscula nas linhas não diferem estatisticamente pelo teste de Tukey P (<0,05)

\*CV: coeficiente de variação,

Quanto ao pH dos inóculos das dietas não se observou diferença significativa ( $P>0,05$ ) entre os tratamentos, tempo de incubação e interação tratamento x tempo de incubação com valor médio de 6,80. Para que microrganismos fibrolíticos possam se manter em plena atividade ruminal, o pH do meio deve estar entre 6,2 e 6,8 (OLIVEIRA et al., 2013). Neste sentido, os valores de pH encontrados em todas as dietas utilizadas ficaram dentro do recomendado. Esse fator é importante para as espécies estudadas, já que todas as dietas possuíam, ao menos, 50% de uma fonte de alimento fibroso, o que

indicou a eficiência da FDN presente nas amostras em manter o pH favorável as populações microbianas presentes em maior quantidade no rúmen (fibrolíticas).

Makkar (2003) relata que a complexação dos TCS com proteínas alimentares em pH neutro (6,8) pode beneficiar o aproveitamento dessa proteína, uma vez que só serão descomplexadas em pH ácido, presente no abomaso e contribuindo para o aporte de proteína alimentar digerida no intestino delgado, o que é possível para as dietas utilizadas contendo leguminosa.

A concentração de N-NH<sub>3</sub> diferiu ( $P<0,05$ ) entre todas as dietas (Tabela 8), sendo que, a dieta Controle foi a que produziu ( $P<0,05$ ) quantidade de N-NH<sub>3</sub> maior, 7,03 mg/dL. Observou-se ainda menores concentrações de N-NH<sub>3</sub> nas dietas Gliricídia e Leucena, 5,75 e 5,46mg/dL, respectivamente, essas concentrações de N-NH<sub>3</sub> podem estar relacionadas com as concentrações de TC (Tabela 3), em que as leguminosas gliricídia e leucena apresentaram maiores concentrações de TC e CF. Um dos principais efeitos da presença de TC em dieta para ruminantes é a redução na proteólise e da desaminação da proteína dietética no rúmen, justificando assim a menor concentração de N-NH<sub>3</sub> nas dietas com maiores teores de TC.

A quantidade de N-NH<sub>3</sub> no rúmen pode ser um indicativo da eficiência de utilização dos compostos nitrogenados dietéticos e endógenos no rúmen. Segundo SATTER & STYLER (1974), a concentração de N-NH<sub>3</sub>, diluído no líquido ruminal, deve estar no nível mínimo de 5,0mg/dL, enquanto Van Soest (1994) indica que a concentração ótima é de 10mg/dL de líquido ruminal. Essas concentrações, em teoria, seriam adequadas para atender a demanda de nitrogênio dos microrganismos presentes no rúmen, sobretudo os fermentadores de carboidratos fibrosos.

Os resultados encontrados demonstraram que todas as dietas são capazes de suprir a demanda por N-NH<sub>3</sub> no ambiente ruminal, para a produção de proteína microbiana. No entanto, as dietas Gliricídia e Leucena estariam no limite inferior de suprimento de N-NH<sub>3</sub> para as bactérias ruminais. Sendo assim, em dietas contendo essas leguminosas seria prudente utilizar juntamente outra fonte de N com maior solubilidade da proteína, para que o crescimento microbiano e a fermentação da fibra não sejam comprometidos (SOLTAN et al., 2012)

Havendo ainda, maior produção de N-NH<sub>3</sub> no intervalo de leitura às 8h, e menor as 12h, após o início da fermentação ruminal *in vitro*. A ocorrência desse

fato tem, possivelmente, ligação com as quantidades da FDN, presente nas amostras, que demanda de um intervalo mínimo em horas para que possa começar a degradada a fibra e iniciar a produção do N-NH<sub>3</sub>.

## CONCLUSÃO

Os resultados obtidos demostram que as leguminosas gliricídia, leucena, guandu e jureminha, têm potencial para serem utilizadas em substituição ao alimento concentrado, sobre tudo a leguminosa gliricídia, por apresentar cinética de fermentação mais semelhante a dieta utilizada como controle. Sendo uma alternativa a otimização de uma fonte de proteína a ser utilizada na associação com espécies gramíneas, na formulação de dietas, favorecendo a demanda por alimentos na nutrição de ruminantes.

## LITERATURA CITADA

ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS. **Official methods of analysis**. 16. Ed. Arlington: AOAC International, p.4/1-4/30, 1995

AZEVEDO, G. Pastos Arbóreos, 2ª ed. Mossoró, UFV, p.32, 1987.

BANDES, D.; FEITAS, E. A. G. Taninos condensados – uma ferramenta para melhorar o desempenho de ruminantes. **Agropecuária Catarinense**, v.5; n.3; p.44-48, 1992.

BARRETO, M.L.J.; LIMA JÚNIOR, D.M.; OLIVEIRA, J.P.F.; RANGEL, A.H.N. Utilização da Leucena (*Leucaena leucocephala*) na Alimentação Ruminantes. **Revista Verde Agroecologia e Desenvolvimento Sustentável**, v.5, n.1, p.7-16, 2010.

BEELEN, P. M. G.; BERCHIELLI, T. T.; BEELEN, R.; MEDEIROS, A. N. Influence of condensed tannins from Brazilian semi-aride legumes on ruminal degradability, microbial colonization and enzymatic activity. **Small Ruminant Research**, v.61, n.1, p.35-44, 2006.

BEELEN, P. M. G.; PEREIRA FILHO, J. M.; BEELEN, R. N. Avaliação de taninos condensados em plantas forrageiras. Associação Brasileira de Zootecnia, **Anais: ZOOTECH**, 2008.

BEELEN, P.M.G. Taninos condensados de leguminosas nativas do semiárido nordestino. 71f. **Tese** (Doutorado) – Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal, SP, 2002.

BUTLER, L. G. Polyphenols and their effects on sorghum quality. In: International symposium on sorghum grain quality, Palancheru. **Proceedings**. p.294-311, 1982.

BLUMMEL, M.; MAKKAR, H. P. S.; CHISANGA, G.; MTIMUNI, J.; BECKER, K. The prediction of dry matter intake of temperate and tropical roughages from *in vitro* digestibility/gas-production data, and the dry matter intake and *in vitro* digestibility of African roughages in relation to ruminant liveweight gain. **Animal Feed Science Technology**. p.131-141, 1997.

CNCPS, The Cornell Net Carbohydrate and Protein System was developed to predict requirements, Version 6.5 became available on March 25, 2015

COSTA, B.M.; SANTOS, I.C.V; OLIVIERA, G.J.C.; PEREIRA, I.G. Avaliação de folhas de *Gliricídia sepium* (jacq.) walp por ovinos. **Archivos de Zootecnia**, v.58, n.221, p.33-41, 2009.

COHEN-ZINDER, W.; LEIBIVICH, H.; VAKNIN, Y.; SAGI, G.; SHABTAY, A.; BEN-MEIR, Y.; NIKBACHAT, M.; PORTNIK, Y; YISHAY, M.; MIRON, J. Effect of feeding lactating cows with ensiled mixture of *Moringa oliefera*, wheat hay and molasses, on digestibility and efficiency of milk production. **Animal Feed Science and Technology**. v.211, p.75-83, 2016.

CRAVEN, D.; BRADEN, D.; ASHTON, M. S.; BERLYN, G. P.; WISHNIE, M.; DENT. D. Between and within-site comparisons of structural and physiological characteristics and foliar nutrient content of 14 tree species at a wet, fertile site and a dry, infertile site in Panama. **Forest Ecology and Management**, v.238 p.335–346, 2007.

DEMINICIS, B.B.; ALMEIDA, J.C.C.; MALAFAIA, P.A.M.; BLUME, M.C.; ABREU, J.B.R.; VIEIRA, H.D. Germinação de sementes em placas fecais bovinas, **Archivos de Zootecnia**, Córdoba, v.58, n. 221, p.73-84. 2009.

DORNELAS, C. S. M. Cinética ruminal em caprinos de forrageiras nativas. Dissertação – **Universidade Federal da Paraíba**, Areia, 2003.

FIGUEIREDO, R. W. Histórico da maniçoba no Brasil: potencialidade, multiplicação e produção. In: Encontro nordestino de maniçoba, **Anais**. Recife: Sudhevea; IPA, p. 29-57, Coleção Mossoroense, série C, 1989.

FLACHOWSKY, C. & LEBZIEN. Effects of phytogenic substances on rumen fermentation and methane emission: A proposal for a reaserch process. **Animal Feed Science and Technology**, v. 176, p.70-77, 2012.

FORLIM, S. M.: REY H. Y.; MROGINSKI, L. A. Cultivo de tejidos de *Desmenthus virgathus*: obtención de plantas a partir de hojas. Argentina: IBONE; Faculdade de Ciências Agrarias, **Comunicação Científicas y Tecnológicas**, 2000.

GARCEZ, B.S.; CÂMARA, C. S.; MOREIRA FILHO, M. A.; VASCONCELOS, V. R.; AZEVEDO, M. M. R. Determinação dos parâmetros fermentativos de leguminosas pela técnica *in vitro* semiautomática de produção de gases. **PUBVET**, Londrina, V. 8, N. 5, Ed. 254, Art.1683, 2014.

GINER-CHAVES, B. I. Condensed tannins in tropical forages. (Theses – Philosophy) Cornell University, **Ithaca**, 1996.

GODOY, P.B. Aspectos nutricionais de compostos fenólicos de ovinos alimentados com leguminosas forrageiras. **Tese** (Doutor em Ciências). Centro de Energia Nuclear na Agricultura. Piracicaba, SP, p.94. Universidade de São Paulo-CENA, 2007.

GOERING, H.K.; VAN SOEST, P.J. Forage fiber analysis (Apparatus, reagents, procedures and some applications). Washington, **DC**: USDA, (Agricultural Handbook, 379), 1970.

HASLAM, E. Natural polyphenols (vegetable tannins) as drugs: possible modes of action. **Journal of Biological Chemistry**, v.256, p.205-215, 1996.

HERNANDEZ, P.; SALEM, A.Z.M.; LOPEZ, S.; SUN, X.Z.; ROJO, R.; CAMACHO, C.M.; ELGHANDOUR, M.M.Y.; GONZALEZ-RONQUILO, M. Influence of *Salix babylonica* and *Leucaena leucocephala* leaf extracts on ruminal fermentation characteristics, urinary purine derivative excretion and microbial protein synthesis of lambs. **Livestock Science**, v.163, p.80-84, 2014.

JANSMAN, A. J. M. Tannins in feedstuffs for simple stomached animals. **Nutrition Research Reviews**, v.6, p. 209-236, 1993.

JEAN-BAIN, C. Aspects nutritionals et toxicologiques des tannins. **Veterinary Medical**, v.149, p.911-920, 1998.

JONAS, R. M.; BRANDON, J. N. Persistence and productivity of eight accessions of *Desmanthus virgatus* under a range of grazing pressures in subtropical Queensland. **Technical Grasslands**, Brisbane, v.32, n.87, p 145-152, 1998.

JUMA, H. K.; ABDULRAZAK, S. A.; MUINGA, R. W.; AMBULA, M. K. Evaluation of clitoria, gliricidia and mucuna as nitrogen supplements to *Napier grass* basal diet in relation to the performance of lactating Jersey cows. **Livestock Science** v.103, p.23–29, 2006.

KANG, S.; WANAPAT, M.; PAKDEE, P.; PILAJUN, R.; CHERDTHONG, A. Effects of energy level and *Leucaena leucaena* leaf meal as a protein source on rumen fermentation efficiency and digestibility in swamp buffalo. **Feed Science and Technology** v.174, p.131– 139, 2012.

LASCANO, C. E.; CÁRDENAS, E. Alternatives for methane emission mitigation in livestock system. **Revista Brasileira de Zootecnia**. v.39, p.175-182, 2010.

LEINMÜLLER, E., STEINGASS, H., MENKE, K.H., Tannins in ruminant feedstuffs. **Animal Reserve Definition**, v.33, p.9–62, 1991.

LONGO, C.; BUENO, I. C. S.; NOZELLA, E. F.; GODDOY, P. B.; CABRAL FILHO, S. L. S.; ABDALLA, A. L. The influence of headspace and inoculums dilution *in vitro* ruminal methane measurements. *Internation Congress Series, Amsterdam*, v. 1223, p.62-65, 2006.

MAKKAR, H. P. S.; Effects and fate os tannins in ruminant animals, adaptation to tannins, and strategies to overcome detrimental effects of feeding tannin-rich feeds. **Small Ruminant Research** v.49, p.241-256, 2003.

MAKKAR, H.P.S., BLUMMEL, M., BOROWY, N.K. AND BECKER, K. Gravimetric determination of tannins and their correlations with chemical and protein precipitation methods. **Journal of Science and Food Agriculture** v.61, p.161–165. 1998.

MANGAN, J.L., Nutritional effects of tannins in animal feeds. **Nutrition Reserve Revist** 1, 209–231, 1988.

McNAUGHTON, S. J.; TERNOUTH, J. H. Nutrition of herbivores. London: **Academic Press**. p.391-408, 1987.

McSWEENEY, C. S.; PALMER, B.; BUNCH, R. et al. Effect of the tropical forage calliandra on microbial protein synthesis and ecology in the rumen. **Journal Applied Microbiology**, v.90, n.1, p.78-88, 2001.

MIRANDA, G. A.; MATRANGOLO, W. J. R.; ARAÚJO, S. N.; MOREIRA, J. A. A.; PEREIRA, M.P.R.; DA SILVA, I. H. S. *Cratylia argentea*: Produção de Fitomassa e Crescimento em Sistemas de Aléias na Região Central de Minas Gerais. **Resumos** do VII Congresso Brasileiro de Agroecologia – Fortaleza/CE; v. 6, n. 2, 2011.

MIZUBUTI, I. Y.; RIBEIRO, E. L. de A.; ROCHA, M. A.; MOREIRA, F. B.; KHATOUNIAN, C. A.; PEREIRA, E. S.; FERNANDES, W. C.; SOUZA, L. W. de O.; PINTO, A. P. Consumo médio e digestibilidade do feno de capim “Coast cross” (*Cynodon dactylon* (L.) pers.) e feijão guandu (*Cajanus cajan* (L.) Millsp) em carneiros submetidos a dois regimes alimentares. **Semina: Ciências Agrárias**, Londrina, v. 28, n. 3, p. 513-520, 2007.

MOLINA I.C.; ANGARITA, E.A.; MAYORGA, O.L.; CHARÁ, J.; BARAHONA-ROSALES R. Effect of *Leucaena leucocephala* on methane production of *Lucerna heifers* fed a diet based on *Cynodon plectostachyus*. **Livestock Science**; v.185; p 24-29, 2016.

MOULD, F. L.; MORGAN, R.; KLIEM, K. E.; KRYSTALLIDOU, E. A review and simplification of the *in vitro* incubation medium. **Animal Feed Science and Technology**, v.123-124, p. 155-172, 2005.

MOWAT, D.N., KWAIN, M.L., WINCH, J.E. Lignification and *in vitro* cell wall digestibility of plant parts. **Canadian Journal of Plant Science**, v. 49, p.499-504, 1969.

NERES, M. A.; CASTAGNARA, D. D.; SILVA, F. B.; OLIVEIRA, P. S. R.; MESQUITA, E.E.; BERNARDI, T. C.; GUARIANTI, A. J.; VOGT, A. S. L. Características produtivas, estruturais e bromatológicas dos capins Tifton 85 e Piatã e do feijão guandu cv. Super N, em cultivo singular ou em associação. **CIÊNCIA RURAL**, Santa Maria, v.42, n.5, p.862-869, 2012.

NOZELLA, E. F. Determinação de tanino em plantas com potencial forrageiro para ruminantes. Dissertação de mestrado, **USP**-Piracicaba-SP, 2001.

OLIVEIRA, V.S.; SANTANA NETO, J. A.; VALENÇA, R. L.; Características químicas e fisiológicas da fermentação ruminal de bovinos em pastejo – Revisão



de Literatura. **Revista Científica Eletrônica de Medicina Veterinária**, ano XI, n. 20, p 1-21, 2013.

OLIVEIRA, V. S. Cinética da fermentação ruminal de gramíneas forrageiras irrigadas e não irrigadas. **Dissertação**, p 1-59. Universidade Federal de Sergipe, 2014

PATRA, A.K., SAXENA, J. Exploration of dietary tannins to improve rumen metabolism and ruminant nutrition. **Journal Science Food Agriculture** v.91, p.24–37, 2011.

PINA, D.S.; VALADARES FILHO, S.C.; VALADARES, R.F.D.; CAMPOS, J.M.S.; DETMANN, E.; MARCONDES, M.I.; OLIVEIRA, A.S.; TEIXEIRA, R.M.A. Consumo e digestibilidade aparente total dos nutrientes, produção e composição do leite de vacas alimentadas com dietas contendo diferentes fontes de proteína. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.35, n.4, p.1543-1551, 2006.

RANGEL, J. H. A.; MUNIZ, E. N.; SÁ, C. O.; SÁ, J. L. Implantação e manejo de legumineira com gliricídia (*Gliricidia sepium*). Aracaju, SE: EMBRAPA – Tabuleiros Costeiros. p.5. (EMBRAPA – Tabuleiros Costeiros). **Circular Técnica**, v.63, 2011.

SAHA, H.M.; KAHINDI, R.K.; MUINGA, R.W. Evaluation of manure from goats fed *Panicum* basal diet and supplemented with Madras thorn, *Leucaena* or *Gliricídia*. **Journal Tropic Subtropic Agroecosystems**, v.8, pp. 251–257, 2008.

SALLAM, S. M. A. H.; BUENO, I. C. S.; GODOY, P. B.; NOZELLA, E. F.; VITTI, D. M. S. S.; ABDALLA, A. L. Ruminant fermentation and tannins bioactivity of some browses using a semi-automated gas production technique. **Tropical Subtropical Agroecosystem**. v.12, p. 1-10; 2010.

SANTOS, C. K. Avaliação de espécies forrageiras disponíveis para ruminantes no semiárido. **Dissertação** mestrado, Universidade Federal Rural de Pernambuco, 2013.

SATTER, L. D. & SLYTER, L. L.; Effect of ammonia concentration on rumen microbial protein production *in vitro*. **British Journal of Nutrition**, v.32 p.199-208, 1974.

SENGER, C.C.D.; KOZLOSKI, G.V.; SANCHEZ, L.M.B.; MESQUITA, F.R.; ALVES, T.P.; CASTAGNINO, D.S. Evaluation of autoclave procedures for fiber analysis in forage and concentrate feedstuffs. **Animal Feed Science and Technology**, v.146, p.169-174, 2008.

SILVA, S. Plantas forrageiras de A a Z. 1. ed. Viçosa, MG: Universidade Federal de Viçosa, p. 255; 2009.

SILVA, P. C. G.; MOURA, M. S. B.; KILL, L. H. P.; BRITO, L. T. L.; PEREIRA, L. A.; SÁ, I. B.; CORREIA, R. C.; TEXEIRA, A. H. C.; CUNHA, T. J. F.; GUIMARÃES FILHO, C. Caracterização do semiárido brasileiro: Fatores naturais e humanos. In: Sá, I. B.; Silva, P. C. G, Semiárido brasileiro: pesquisa desenvolvimento e inovação – Petrolina: **Embrapa Semiárido**, p 17-48; 2010.

SCHOFIELD, P.; PELL, A.N. Validity of using accumulated gas production readings to measure forage digestion in vitro, **Journal Dairy Science**, v.78(11), p.2230-2238, 1992.

SNIFFEN, C. J.; O'CONNOR, J. D.; Van SOEST, P. J. et al. A net carbohydrate and protein system for evaluating cattle diets: II carbohydrate and protein availability. **Journal of Animal Science**, v.70, n.12, p.3562-3577, 1992.

SOLTAN, Y. A.; MOSRY, A. S.; SALLAM, S. M. A.; LOUVANDINI, H.; ABDALLA, A. L. Comparative in vitro evolution of forage legumes (*prosopis*, *acácia*, *atriplex* and *leucaena*) on ruminal fermentation and methanogens. **Journal Animal Feed Science**. v.21, p.759-772; 2012.

SPENCER, C. M.; CAI, Y.; MARTIN, R.; GAFFNEY, S. H.; GOULDING, P. N.; MAGNOLATO, D.; LILLEY, T. H.; HASLAM, E. Polyphenol complexation some thoughts and observations. **Phytochemistry**, v.27, p.2397-2409, 1988.

TERRILL, T.H.; ROWAN, A.M.; DOUGLAS A. Determination of extractable and bound condensed tannin concentration in forage plants, protein concentrate meals and cereal grains. **Journal Science Food Agriculture**, v.58, p.321-329, 1992.

THEODOROU, M. K.; WILLIAMS, B. A.; DHANOA, M. S.; MCA-LLAN, A. B.; FRANCE, J. A simple gas production method using a pressure transducer to determine the fermentation kinetics of ruminant feeds. **Animal Feed Science and Technology**. v. 48, p.185-197, 1994.

VAN SOEST, P.J.; ROBERTSON, J.B.; LEWIS, B.A. Methods for dietary fiber, neutral detergent fiber, and nonstarch polysaccharides in relation to animal nutrition. **Journal of Dairy Science**, v.74, n.10, p.3583-3597, 1991.

VAN SOEST, P.J. Nutritional ecology of the ruminant. 2<sup>o</sup> edition **Ithaca**: Cornell University Press, p.476, 1994.

VIEIRA, F.T.P.A; SILVA, J.A.A; FERREIRA, R.L.C; CRUZ, M.A.O.M; FERRAZ, I. Uma abordagem multivariada em experimento silvipastoril com *Leucaena leucocephala* (Lam.) de Wit no agreste de Pernambuco. [Editorial]. **Ciência Florestal**, vol. 17, n. 4, p. 333-342, 2007.

ZAHAWI, R.A., Establishment and growth of living fence species: an overlooked tool for the restoration of degraded areas in the tropics. **Restory Ecology** v.13, p.92–102, 2005.

ZHONG, R.; FANG, Y; SUN, H.; WANG, M; ZHOU, D. Rumen methane output and fermentation characteristics of gramineous forage and leguminous forage at differing harvest dates determined using an *in vitro* gas production technique. **Journal of Integrative Agriculture**, v.15(2), p.414-423, 2016.